

# CAROTENOID-OR PROCAROTENOID-CONTAINING COMPOUND COMBINED WITH POLYPHENOL FOR PREVENTING DAMAGE CAUSED BY ABNORMAL PRODUCTION OF FREE RADICAL

**Publication number:** JP7196534

**Publication date:** 1995-08-01

**Inventor:** ETSUIO BONBARUDETSURI; PAORO MORATSUTSUOONI

**Applicant:** INDENA SPA

**Classification:**






**- international:** A23L1/30; A23L3/3463; A23L3/3481; A23L3/3499; A23L3/3544; A61K8/00; A61K8/11; A61K8/30; A61K8/31; A61K8/35; A61K8/49; A61K8/67; A61K8/96; A61K8/97; A61K9/02; A61K9/20; A61K9/48; A61K31/01; A61K31/015; A61K31/12; A61K31/35; A61K31/355; A61K36/00; A61K36/18; A61K45/06; A61P3/00; A61P17/00; A61P39/06; A61Q17/00; A61Q19/00; A61Q19/08; A23L1/30; A23L3/3463; A61K8/00; A61K8/11; A61K8/30; A61K8/96; A61K9/02; A61K9/20; A61K9/48; A61K31/01; A61K31/12; A61K31/35; A61K31/352; A61K36/00; A61K36/18; A61K45/00; A61P3/00; A61P17/00; A61P39/00; A61Q17/00; A61Q19/00; A61Q19/08; (IPC1-7): A61K45/06; A23L1/30; A61K7/00; A61K7/48; A61K9/02; A61K9/20; A61K9/48; A61K31/015; A61K31/12; A61K31/35; A61K31/355; A61K35/78

**- european:** A61Q19/08; A23L3/3463; A23L3/3481; A23L3/3499; A23L3/3544; A61K8/31; A61K8/35C; A61K8/49H2; A61K8/67L; A61K8/97; A61K31/35; A61K36/16; A61K36/28; A61K36/77; A61K36/82; A61K36/87; A61Q17/00

**Application number:** JP19940128661 19940610

**Priority number(s):** IT1993MI02688 19931221

**Also published as:**

 EP0659402 (A2)  
 FI942452 (A)  
 EP0659402 (A3)  
 EP0659402 (B1)  
 IT1265312 (B)

more >>

**Report a data error he**

## Abstract of JP7196534

**PURPOSE:** To obtain an antioxidant used for medicines, foods, cosmetics, etc., exhibiting stronger anti-oxidant action by synergistic effect by combining a lipophilic antioxidant such as carotenoid with a hydrophilic antioxidant such as catechin as active elements. **CONSTITUTION:** This excellent antioxidant is obtained by combining a hydrophilic antioxidant with a lipophilic antioxidant. The lipophilic antioxidant includes preferably carotenoid, procarotenoid or its derivative or further, includes preferably vitamin E, &beta;-carotene, lycopene, ubidecarenone or ubiquinol. The hydrophilic antioxidant includes preferably &alpha;-antioxidant selected from a group of polyphenols having catechin-like or flavonolignan-like structure or further, includes preferably an antioxidant selected from silymarine or one of the component (silybin, silydiapin, silychristin or isosilybin), proanthocyanidin A2 and proanthocyanidol oligomer extracted from Vitis vinifera. Natural or synthetic phospholipid is preferably included as a vehicle.

Data supplied from the esp@cenet database - Worldwide

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平7-196534

(43) 公開日 平成7年(1995)8月1日

(51) Int.Cl. <sup>6</sup>	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
A 6 1 K 45/06				
A 2 3 L 1/30	Z			
	B			
A 6 1 K 7/00	C			
	D			

審査請求 未請求 請求項の数7 OL (全6頁) 最終頁に続く

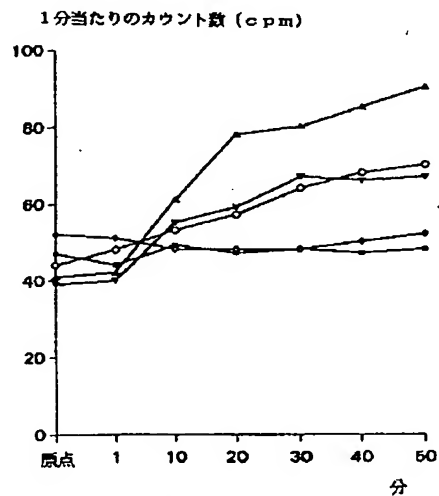
(21) 出願番号	特願平6-128661	(71) 出願人	592121815 インデナ・ソシエタ・ベル・アチオニ INDENA SOCIETA PER AZIONI イタリア国、ミラノ、ヴィア・リバモンテ イ、99
(22) 出願日	平成6年(1994)6月10日	(72) 発明者	エツィオ・ボンバルデッリ イタリア国、ミラノ、ヴィア・リバモンテ イ、99
(31) 優先権主張番号	MI 93 A 002688	(72) 発明者	パオロ・モラッツォーニ イタリア国、ミラノ、ヴィア・リバモンテ イ、99
(32) 優先日	1993年12月21日	(74) 代理人	弁理士 津国 肇 (外2名)
(33) 優先権主張国	イタリア (IT)		

(54) 【発明の名称】 遊離基の異常産生による損傷防止のための、ポリフェノールを組合せた、カロテノイド又はプロカロテノイド含有配合物

## (57) 【要約】

【構成】 活性要素として、親油性抗酸化剤、例えばカロテノイド、プロカロテノイド及びその誘導体、を組合せた浸水性抗酸化剤、例えばカテキン及びフラボノリグナン様構造のポリフェノールを含有する医薬、食料、食品及び化粧品組成物。

【効果】 上述の組合せ抗酸化剤は、単一化合物よりはるかに強い抗酸化作用を発揮する。



★ : ザイモザンで刺激した対照

○ : 刺激しなかった対照

● : シリマリジン 2.5mg + リコペン 2.5mg + ザイモザン

◇ : シリマリジン 5mg + ザイモザン

✱ : リコペン 5mg + ザイモザン

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 活性要素として、親水性抗酸化剤を組合せた親油性抗酸化剤を含有する医薬、食料、食品又は化粧品組成物。

【請求項2】 親油性抗酸化剤が、カロテノイド、プロカロテノイド及びその誘導体の群から選ばれる請求項1記載の組成物。

【請求項3】 親油性抗酸化剤が、ビタミンE、β-カロテン、リコペン、ユビデカレノン又はユビキノールから選ばれる請求項2記載の組成物。

【請求項4】 親水性抗酸化剤が、カテキン様又はフラボノリグナン様構造を有するポリフェノールの群から選ばれる請求項1～3のいずれか一項記載の組成物。

【請求項5】 親水性抗酸化剤が、シリマリン若しくはその構成成分の一つ（シリピン、シリジアニン、シリクリスチン及びイソシリピン）、プロアントシアニジンA2、又はVitis vinifera、Camellia sinensis、Aesculus hippocastanum、Ginkgo biloba 若しくはCardus marianum から抽出されたプロシアニドールオリゴマーから選ばれる請求項4記載の組成物。

【請求項6】 賦形剤として、異なるリン脂質含有量を有する未精製レシチンを含む天然又は合成のリン脂質を含有する請求項1～5のいずれか一項記載の組成物。

【請求項7】 軟若しくは硬ゼラチンカプセル、錠剤、坐薬、又は経皮剤の形態での、請求項1～6のいずれか一項記載の組成物。

## 【発明の詳細な説明】

【0001】本発明は、親油性抗酸化剤と親水性抗酸化剤の、新規配合物及び組合せ、並びに治療、食料及び化粧品分野でのその用途に関する。これらの配合物は、純粋な形態及び抽出物に含有された形態の、カテキン様及びフラボノリグナン様構造を有するポリフェノールと共に、カロテノイド及びプロカロテノイド（並びにその誘導体）を用いることに基づいている。

【0002】食品からの、又は医薬若しくは栄養配合物としての、ビタミンE、β-カロテン、リコペン及びユビデカレノン（補酵素Q10）の投与は、心臓血管疾患の発病率を有意に低下させることが文献中で十分に認められており、また若干の腫瘍の予防にも重要な役割を果たすと考えられている。カロテノイドの抗アテローム性動脈硬化活性に関する限りでは、最近の研究によれば、カロテノイドのリポ蛋白質酸化防止能力（従って、その血管の取り込みに干渉する）が、最も重要な機序の一つであると思われる。実際に、カロテノイドは、低密度リポ蛋白質（LDL）に生理学的に組み込まれ、その酸化を防止して、主として内皮組織の損傷となって現れるアテローム性動脈硬化性損傷の主原因に効果的に対抗する【1～4】。

【0003】カロテノイドは、細胞レベルでの効果的な抗酸化剤であって、それらの機能は、遺伝子の誤りの頻

度がより高い活発に増殖中の細胞で特に発現される。カロテノイドの生物学的利用能の裏付けとして、酸素ラジカルを発生させることが知られている紫外線照射による皮膚損傷に対する、その経口投与後における、防止作用及び目の機能での末梢レベルでのその役割は、よく知られている。

【0004】二量体及びオリゴマー型のカテキン様構造を有するポリフェノールは、大小の口径の血管でのそれらの作用のために、心臓脈管の治療及び眼科学に広く用いられている。これらの天然ポリフェノールは、毛細血管の脆弱性及び透過性に対して、並びに内皮の保護に対して有益な調節作用を実際に発揮する。最近の文献は、前記化合物の生物学的効果に基づいて、この抗酸化剤活性を、重要な機序と一致して認めている。

【0005】フラボノリグナン類、とりわけシリマリン及びその3種類の主要構成成分（シリピン、シリジアニン及びシリクリスチン）は、肝臓及び末梢レベルでの顕著な抗ラジカル能力を特徴とする。Vitis viniferaから抽出されたプロシアニドールというオリゴマーについて本出願者により証明【5】されているように、及び異なる植物源から抽出された多数のポリフェノール性物質について他の著者らにより証明【6、7】されているように、この一連の化合物のもう一つの興味深い生物学的特性は、顕著な抗突然変異作用を有することである。そのような特性は、部分的には抗酸化効果と関連していて、自然突然変異及び紫外線照射又は突然変異誘発性生産物、例えば薬剤若しくは大気汚染物質のいずれかによって誘発される突然変異の双方に対して現れる。

【0006】ポリフェノール性物質の作用部位は、カロテノイド及びその類似物質のそれらとは非常に異なり、従って、親油性化合物及び親水性化合物の相対する投与は、生物学的観点からは予想外の驚くべき利点をもたらす。

【0007】ビタミンE、β-カロテン、リコペン、補酵素Q10及びその異性体などのカロテノイドは、活性化された形態の酸素に対する非常に効果的な抗ラジカル化合物であることが、脂質過酸化の慣用的試験、例えばキサンチン-キサンチンオキシダーゼ系及び本出願者が最近作成した非常に選択的なモデル、これは、水性媒体中での超音波を用いた不飽和リン脂質の脂質過酸化に関するモデル【8】、の双方で立証された。同じ試験で、本発明のポリフェノールは、先行技術による化合物と同じか、又はそれより高い活性を有することが判明した。

【0008】何種類かのポリフェノール性物質、並びに親油性抗酸化剤であるビタミンE及びリコペンをを用いたこれらの試験から得られた結果を第1表及び第2表に要約した。

【0009】

【表1】

第1表  
ヒドロキシル基 (HO・) に対するスカベンジャー活性 [誘発段階]

物 質	C I <sub>50</sub>
プロアントシアニジンA2	$1.7 \times 10^{-7}$
<i>Vitis vinifera</i> からの 90%プロシアニドールオリゴマー	$1.1 \times 10^{-7}$
シリマリン	$1.2 \times 10^{-7}$
ビタミンE	$1.5 \times 10^{-8}$
リコペン	$2.1 \times 10^{-6}$

【0010】

\* \* 【表2】

第2表  
脂質の基 (R・、ROO・) に対するスカベンジャー活性 [生長段階]

物 質	C I <sub>50</sub>
プロアントシアニジンA2	$4.0 \times 10^{-7}$
<i>Vitis vinifera</i> からの 90%プロシアニドールオリゴマー	$5.1 \times 10^{-7}$
シリマリン	$5.2 \times 10^{-7}$
ビタミンE	$1.0 \times 10^{-7}$
リコペン	$1.8 \times 10^{-7}$
リコペン+前記オリゴマー (4:1)	$1.2 \times 10^{-9}$

【0011】親水性抗酸化剤と親油性のそれとの組合せは、驚くべきことに、同じ濃度で試験した単一化合物よりはるかに強い抗酸化剤作用を発揮する (第2表) ことが発見され、そしてそれが本発明の一つの目的である。従って、本発明は活性要素として、親油性抗酸化剤を組合せた親水性抗酸化剤を含有する医薬、食料、食品及び化粧品組成物を提供する。

【0012】この発見は、サイモザンで刺激したヒト繊維芽細胞、及び化学発光による過酸化過程の評価を用いたもう一つの生体外モデルでも確認されている。例えばリコペンとシリマリンとの組合せは、単一成分よりも驚異的に顕著な抗酸化剤効果を有することが立証された (図1)。

【0013】同じ結果が、親油性抗酸化剤 (ユビデカレノン及びビタミンE) 及び親水性抗酸化剤 (*Vitis vinifera*から抽出したオリゴマー) の別の組合せを用いても得られた。

【0014】精製リコペンを用いた生体外モデルで得られた結果は、その後、親油性抗酸化剤と親水性酸化剤との併用が、遊離基が重要な役割を果たす実験的損傷で予測し得なかった効果的な改善を与えた生体内モデルによっても確認された。

【0015】対照としては、実際には刺激剤 (ホルボールエステル) を用いた炎症過程のモデル (ここで、この刺激剤は、生体膜レベルでの脂質過酸化を誘発し、次いで、ラジカル連鎖反応によってそれを伝播する) を選択した。

【0016】第3表は、シリマリン、*Lycopersicum esculentum*の乾燥表皮のヘキサン抽出によって調製される画分である高いリコペン含有量 (5%) を有する親油性画分と組み合わせたシリマリン、及びリコペンを有する画分を用いて得られたマウスにおける浮腫誘発防止活性のデータを示した。データは、誘発6時間後に測定した浮腫の減少の百分率として表した。

【0017】

【表3】

第3表  
マウスのホルボールエステル浮腫に対するシリマリン、リコペン及びその組合せの抗浮腫誘発活性

物質	投与量 ( $\mu\text{g}$ / 個体)	浮腫	減少%
対照	--	$8.1 \pm 0.2$	--
シリマリン	300	$6.3 \pm 0.2$	22.2 NS
	150	$7.3 \pm 0.4$	9.9 NS
5%リコペン	200	$6.8 \pm 0.3$	16.0 NS
	100	$7.5 \pm 0.4$	12.4 NS
5%リコペン+ シリマリン	200+100	$1.2 \pm 0.2^*$	86.4
5%リコペン+ シリマリン	100+50	$5.1 \pm 0.0^*$	37.0

平均値 $\pm$ SD、\* :  $p < 0.01$ 

【0018】上記のデータは、すべて、異なる極性を有する2種類の抗酸化剤の組合せが、単一化合物の有効性

を著しく高めることを示している。最もあり得ることは、そのような相乗作用は、過酸化過程のほぼ完全な遮断をもたらす、より多くのラジカル種での相伴う同時作用によるものである。

【0019】同じ現象は、これらの組合せの抗突然変異効果を調べたときにも生じるが、この効果によって抗酸化剤成分は傑出した役割を果たし、そしてこの効果は、\*

第4表

*Salmonella typhimurium* の自然突然変異の頻度における  
緑茶から抽出したプロシアニドールオリゴマー、リコペン  
及びその組合せの抗突然変異活性

物質 mg/プレート	TA98		TA100	
	-S9	+S9	-S9	+S9
0	1.0 (41)	1.0 (48)	1.0 (163)	1.0 (133)
オリゴマー				
1.0	1.0	0.8	0.9	1.0
2.5	1.0	0.7	1.1	1.0
5.0	0.5	0.5	0.7	0.9
リコペン				
0.2	1.0	0.9	0.9	0.8
0.4	0.8	0.8	1.0	0.9
0.5	0.7	0.7	0.9	0.8
オリゴマー+ リコペン				
0.50+0.10	0.6	0.5	0.7	0.7
1.25+0.20	0.5	0.5	0.7	0.8
2.50+0.25	0.4	0.3	0.7	0.7

【0022】緑茶からのポリフェノール画分としては、エピガロカテキンガレートとして表される85%のポリフェノール力価及び低いカフェイン含有量(<0.3%)を有する産生物を用いた。リコペン画分と茶ポリフェノールとの混合物を用い、自然突然変異の約50%の阻害がエイムス試験 [*Salmonella typhimurium*: TA-100 及びTA-98] で得られた。

【0023】そのような効果は、代謝活性とは無関係であることが判明した(-S9又は+S9)。類似の効果は、*Saccharomyces cerevisiae*の株に対しても得られていて、ここでは、自然突然変異に対する効果が、核レベル、及びはるかに重要なことにミトコンドリアの情報の

レベルでも制御されている。

【0024】二つの画分の比率は、異なる配合物の適用分野に応じて、ポリフェノール1部から親油性抗酸化剤1部まで変動させることができる。

【0025】これらの配合物として用いるための賦形剤としては、天然及び合成リン脂質の双方、並びに異なるリン脂質含有量を有する粗製レシチンが特に重要である。リン脂質は、カテキン及びフラボノリグナンの双方の性質を有するポリフェノール性物質の吸着を促進するのに特に適切な担体である。これらの組合せの好適な投

\*癌の防止及び心臓脈管病理学に関係することから際立って重要である。

【0020】例示のために、緑茶から抽出したポリフェノール、リコペン及びその組合せの効果を第4表に示した。

【0021】

【表4】

与形態は、軟ゼラチンカプセルであるが、硬ゼラチンカプセル、セルロース又は他のマトリックス、並びに坐薬及び経皮形態も着想することができる。

【0026】

【実施例】下記の実施例によって、本発明は更に詳細に説明される。

【0027】実施例1：ピーナッツ油中にシリマリン及びリコペンを含有する配合物

5%のリコペンを含有する *Lycopersicum esculentum* の親油性抽出物200mgをシリマリン50mg、天然のソイホスファチジルコリン(soy phosphatidylcholine) 50mg及びピーナッツ油50mgと混合し、生成物を軟ゼラチンカプセル中に封入した。投与量は1日につき1カプセルから5カプセルまで変動させることができる。

【0028】実施例2：ピーナッツ油中にプロシアニドールオリゴマー及びリコペンを含有する配合物

5%のリコペンを含有する *Lycopersicum esculentum* の親油性抽出物200mgを、*Vitis vinifera* から得たプロシアニドールオリゴマー80mg、天然のソイホスファチジルコリン50mg及びピーナッツ油50mgと混合し、生成物を軟ゼラチンカプセル中に封入した。投与量は1日につき1カプセルから5カプセルまで変動させることが

できる。

【0029】実施例3：ユビデカレノン及びプロシアニドールオリゴマーを含有する配合物

ユビデカレノン20mgをビタミンE-20mg、及び緑茶から得たプロシアニドールオリゴマー80mgと混合し、精製されたソイリン脂質(soy phospholipids) 50mgを含有するピーナツ油100mgにこの混合物を分散させた。懸濁液は軟ゼラチンカプセル中に封入するか、又は錠剤の製造に適した賦形剤に吸着させることができる。投与量は1日につき1カプセルから3カプセルまで変動させることができる。

【0030】実施例4：ユビキノール（還元されたユビデカレノン）、不飽和リン脂質及びプロアントシアニジンA2を含有する配合物

ユビキノール20mgをソイホスファチジルコリン100mgと混合し、ピーナツ油100mgに溶解した。この溶液を80mgのプロアントシアニジンA2に加えた。懸濁液は軟ゼラチンカプセル中に封入することができる。投与量は1日につき1カプセルから3カプセルまで変動させることができる。

【0031】引用文献

1-Ziegler, R.G.

A Review of Epidemiologic Evidence that Carotenoids Reduce the Risk of Cancer

J. Nutr., 119, 116~122, 1989

2-Block, G., Patterson, B., Subar, A.

Fruits, vegetables and cancer prevention: A review of The epidemiological evidence

Nutr. Cancer. 18, 1~29, 1992

3-Frankel, E.N., Kanner, J., German, J.B., Park S., E., Kinsella, J.E.

Inhibition of oxidation of human low-density lipoprotein by phenolic substances in red wine

The Lancet, 341, 454~457, 1993

4-Esterbauer, H., Dieber-Rotheneder, M., Waeg, G., Striegl, G. Jurgens, G.

Biochemical, structural and functional properties

of oxidized low-density lipoproteins

Chem. Res. Toxicol., 3, 77~92, 1990

5-Liviero, L., Puglisi, P.P., Bombardelli, E., Morazzoni, P., Aldini, G.C., Carini, M., Maffei-Facino, R.

Antimutagenic activity of antioxidant procyanidins from *Vitis vinifera*, In: International Symposium of Phytochemistry of Plants used in Traditional Medicine

University of Lausanne, 29 September - 1 October, 1993

Mutation Research, in press.

6-Hayatsu, H., Arimoto, S., Negishi, T.

Dietary inhibitors of mutagenesis and carcinogenesis

Mutation Res., 202, 429, 1988

7-Cassady, J.M.

Natural products as a source of potential cancer chemotherapeutic and chemopreventive agents

J. Natur. Products, 53, 23, 1990

8-Maffei-Facino, R., Carini, M., Aldini, G., Bombardelli, E., Morazzoni, P., Morelli, R.

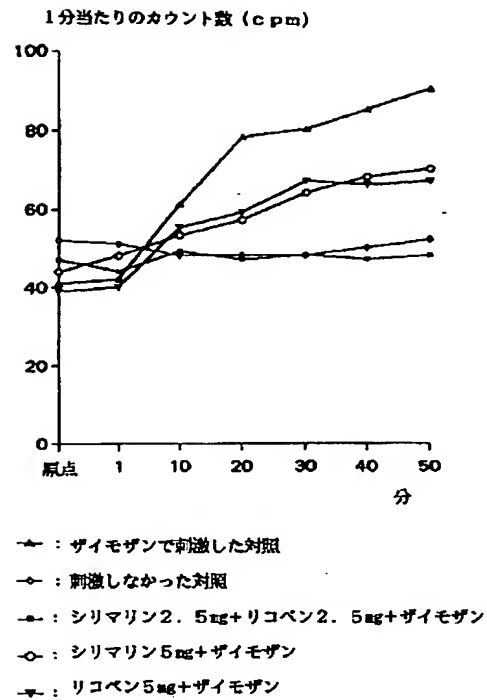
Free radicals scavenging action and anti-enzyme activities of procyanidins from *Vitis vinifera*: a mechanism for their capillary protective action

Arzneim. Forsch. Drug Res., in press.

【図面の簡単な説明】

【図1】ザイモザンで刺激した繊維芽細胞の培養での過酸化においてシリマリン、リコペン及びそれらの組合せの抗酸化剤活性を示すグラフである。

【図1】



フロントページの続き

(51)Int.Cl. <sup>6</sup>	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
A 6 1 K		K		
7/00				
7/48				
9/02		L		
9/20		B		
9/48		C		
		F		
31/015	A D A	9454-4C		
31/12		9454-4C		
31/35				
31/355	A D D			
35/78	C	8217-4C		